

## الفصل الرابع

### تجبن اللبن Coagulation of milk

#### ١. مقدمة

صناعة الجبن يعتبر مثلاً تطبيقياً لعلوم الكيمياء الحيوية والبيولوجية حيث تستخدم الكائنات الحية الدقيقة فى إنتاج الحموضة فى صناعة الجبن بالإضافة إلى دورها فى تسوية الجبن وأكساب الناتج النهائى الصفات المميزة له من حيث الطعم والنكهة والتركيب والقوام .

تحويل اللبن من الحالة السائلة إلى جل (خثرة) يعتبر خطوة اساسية فى جميع أنواع الجبن . تكوين الجل يكون نتيجة إلى أضعاف ثبات البروتين والذى يمكن إحداثه بواسطة بروتينيز حامضى مثل الكيموسين ( المكون النشط فى المنفحة ) أو بالتحميض إلى pH قريب من نقطة التعادل الكهربى للبروتينات أو بواسطة التحميض والتسخين .

تجبن اللبن فى صناعة الجبن يحتاج دائماً إلى إنزيمات ذائبة ويعتبر الأنزيم المجبن للبن من المعدة الرابعة للعجول الرضيعة من أول الأنزيمات التى تمت تنقيتها ويعرف بالرينين " rennin " ويطلق عليه حالياً " الكيموسين chymosin " ( المشتقة من الكلمة اليونانية "chyme" التى تعنى العصير المعوى ) وذلك لتمييز هذا الأنزيم عن أنزيم renin الذى يمكن أستخلاصه من الكلى . كان الكيموسين ، حتى فترة قريبة ، يستخدم على نطاق واسع فى صناعة الجبن فى صورة مستخلص خام crude extract أو عجينة paste أو مسحوق powder معظم أنواع مستخلصات المنفحة الحيوانية المتوفرة تجارياً تحتوى على الببسين pepsin .

زيادة الأتجاه فى كثير من الدول فى ذبح العجول عند عمر أكبر من المفروض ، مع التوسع فى صناعة الجبن على مستوى العالم أدى إلى نقص واضح فى المنفحة الحيوانية والاتجاه إلى استخدام بدائل المنفحة rennet substitutes من مصادر مختلفة ، حيث لجأت صناعة الجبن إلى تغطية احتياجاتها بإستخدام عديد من الأنزيمات المحللة للبروتين التى لها

صناعة اللبن عديد من هذه الأنزيمات بنجاح مرضى فى كثير من دول العالم ومن هذه المستحضرات البيسين من البقر والخنزير والدجاج وكذلك السروتينيز الحامضى من *Mucor miehei* وبدرجة أقل من *M.psuillus* أو *Endothia parasitica* ، وقد تم نقل جين كيموسين العجول calf chymosin gene إلى *A.niger* ، *E.coli* ، *K.lactis* ، وأصبح الكيموسين الناتج من هذه المصادر متوفر حالياً بالأسواق .

## ٢- المواد المجبنة

### ١-٢ المنفحة الحيوانية

تم دراسة عدة أنزيمات بروتينيز من أصل حيوانى من حيث مقدرتها على تجبن اللبن وقد وجد أن الكيموسين والبيسين من الأنزيمات التى لها أهمية كبيرة فى صناعة اللبن . يتم تحضير المنفحة الحيوانية animal rennet بالطريقة التقليدية بأستخلاص معدات العجول الرضعية التى سبق تجفيفها وتقطيعها إلى قطع صغيرة بواسطة محلول ملهى (١٠-١٢٪) . يتكون المستخلص الخام للمنفحة من الكيموسين النشط active chymosin والصورة غير النشطة من الكيموسين prochymosin إضافة حامض إلى هذا المستخلص لخفض pH إلى ٢-٤,٦ يساعد على تحويل prochymosin إلى كيموسين وبذلك يصل المستخلص إلى أقصى نشاط له . يعدل pH المستخلص بعد ذلك إلى ٥,٥ - ٥,٧ مع رفع تركيز الملح إلى حوالى ٢٠٪ وإضافة مواد حافظة مثل بنزوات الصوديوم أو بروبيونات الصوديوم ثم يرشح المستخلص وتعديل قوته حتى يكون جاهزاً للإستخدام . بالرغم من أن تنشيط الأنزيم يكون أسرع عند pH الأقل إلا أن عدم ثبات الكيموسين عند pH أقل من ٥,٠ فى وجود كلوريد الصوديوم يسبب إنخفاض المحصول . يتضمن تنشيط prochymosin انفصال الببتيدات من نهاية N-terminal لـ prochymosin مع إنخفاض فى الوزن الجزيئى من حوالى ٣٦,٠٠٠ إلى ٣١,٠٠٠ . يزداد معدل التحويل بدرجة واضحة بإنخفاض pH إلى أقل من ٥,٠ . عند pH ٥,٠ فإن تركيز كلوريد الصوديوم حتى ٢ مول يزيد من معدل التنشيط activation . وقد وجد أن درجة pH المثلى لثبات الكيموسين يكون بين ٥,٣ - ٦,٣ كما أن الأنزيم يكون ثابتاً بدرجة معتدلة عند pH ٢,٠ لكن كلما ارتفع pH من ٦,٣ إلى نقطة التعادل فإن نشاط الأنزيم يتلف بمعدل متزايد .

وعلى النطاق التجارى يستخدم اللبن الفرز أو اللبن الفرز المسترجع (١٢ جرام / ١٠٠ جرام فى محلول كلوريد الكالسيوم ١,٠ مول) فى تقدير قوة المنفحة فى وحدات

RU التي تعرف بعدد المليمترات من اللبن التي يمكن أن تتجبن في مدة ٤٠ دقيقة عند درجة ٣٥°م في إنجلترا تستخدم المواصفات القياسية البريطانية (BSI) منفحة نقية مجففة كمنفحة قياسية عند تقدير قوة المنفحة .

هذه الطرق يقدر قوة المنفحة أو مستخلص الرنين ولكن لا يقدر قدرة المنفحة على تحلل البروتين . النسبة بين القدرة على التجبن ونشاط تحلل البروتين تعتبر على درجة كبيرة من الأهمية في تقييم المنفحة لأستخدامها في صناعة الجبن .

مستخلص المنفحة من العجول الرضيعة تحتوى على ٨٨ - ٩٤٪ كيموسين ٦ - ١٢٪ بيسين بينما مستخلص المنفحة من العجول الكبيرة تحتوى على ٩٠ - ٩٤٪ بيسين ٦ - ١٠٪ فقط كيموسين . مستخلص المنفحة من الغنم والماعز تستخدم على نطاق واسع في صناعة الجبن حيث تعطى منفحة الغنم طعم أكثر حرافية للجبن عن منفحة العجول . وفي الدول التي تفضل الطعم الحريف في الجبن (إيطاليا ، اليونان ) تستخدم عجينة paste ( الناتجة من الأغشية المخاطية للغنم أو الماعز ) مع المنفحة . تحتوى هذه العجينة على أنزيمات لبيز تنتج أطعمة متميزة في الجبن ، لكن إذا أستخدمت مستخلص المنفحة بمفردها فإنه من الضروري إضافة أنزيم لبيز إلى اللبن قبل عملية التجبن . تحتوى منفحة الخنزير على بيسين (porcin pepsin) الذي يستخدم مع منفحة العجول في تجبن اللبن (بنسبة ١ : ١ ) في بعض الدول الأجنبية .

أنزيم رنين العجول يكون أكثر نشاطاً عند pH ٦,٢ - ٦,٤ بينما البيسين يكون أكثر نشاطاً عند pH حامضى (١,٧ - ٢,٣) لذلك فإن نشاط كل من هذين الأنزيمين يكمل الآخر . بدء في أستخدام المنفحة الخليط في صناعة الجبن نتيجة أرتفاع إنتاج اللبن مع النقص المستمر في المنافح الحيوانية وأهم أنواع المنفحة المستخدمة :

منفحة إلعجول calf rennet

المنفحة البقرى bovine rennet

البيسين البقرى bovine pepsin

البيسين الخنزيرى porcine pepsin

منفحة عجول / بيسين بقرى (٥٠/٥٠) calf rennet / bovine pepsin

منفحة عجول / بيسين خنزيرى (٥٠/٥٠) calf rennet / porcine pepsin

وقد وجد أن البيسين البقرى يمثل ٦٪ أو أقل من قدرة المنفحة الحيوانية التجارية على تجبن اللبن كما أن ٨٥ - ٩٥٪ من نشاط تحلل البروتين لمنفحة العجول تعزى إلى الكيموسين والباقي للبيسين البقرى . المنفحة الخليط من منفحة العجول وبيسين الخنزير قد

تحتوى على ٤٠ - ٤٥٪ كيموسين ، ٥ - ١٠٪ بيسين بقري ، ٥٠٪ بيسين خنزير .  
وقد وجد البعض أن جبن التشدر المصنوع بمنفحة البيسين البقري كانت رديئة  
الجودة بالمقارنة بالجبن المصنوع من منفحة العجول بينما أشار البعض أنه لا يوجد فروق  
محسوسة بين جبن التشدر الناتج بالبيسين البقري والمنفحة .

فى عام ١٩٧٠ تم إنتاج أنزيم مجبن لبن من الدجاج بنجاح ويستخدم فى إسرائيل  
على نطاق واسع فى صناعة الجبن . وجد أن الجبن المصنوع بهذا الأنزيم أفضل من الناتج  
بالمفحة الميكروبية . بيسين الدجاج أكثر نشاطاً فى تحليل البروتين وأقل مقاومة للحرارة  
عن الكيموسين . وقد وجد أن جبن التشدر المصنوع بالبيسين الداجن كانت تنقصه  
الصلابة وشديد المرازة عند عمر ٣ شهور وبالتالي فإن هذا الأنزيم غير مناسب لصناعة  
جبن التشدر .

تعتبر نسبة احتجاز المواد المجبنة فى الخثرة بعد الكبس من العوامل الهامة فى تسوية  
الجبن . يمتزج حوالى ٣٠٪ من كمية المنفحة المضافة إلى الخثرة قبل الكبس تنخفض إلى  
٥ - ٨٪ بعد الكبس وذلك بالنسبة للمنفحة الحيوانية بينما تصل إلى ٣ - ٥٪ للمنفحة  
الميكروبية ، ٣ - ٨٪ للبيسين لذلك فإن الشرش الناتج من الجبن يحتوى على نسبة مرتفعة  
من المواد المجبنة .

تختلف كمية المنفحة المضافة إلى لبن الجبن طبقاً لنوع الجبن . درجة الحرارة عامل  
هام فى تحديد الوقت الذى يتكون فيه الخثرة . عند ٢١ - ٢٧°م فإن الخثرة تكون طرية  
soft وتشبه الجلب ، عند ٣٠°م تكون الخثرة أكثر صلابة firm ولا تفتت عند التقطيع  
بينما عند ٣٣ - ٣٦°م تكون الخثرة جافة tough ومطاطية وتطرد الشرش بصعوبة . عند  
درجة حرارة أقل من ٢٠°م وأعل من ٥٠°م يكون نشاط المنفحة ضعيف جداً . كمية  
المنفحة المضافة تختلف من ١٠ - ٤٥ مل / لتر لبن ولكن فى بعض أنواع من الجبن  
التي تصنع بالتجين الحامضى ( مثل Cottage ) تضاف كمية صغيرة من المنفحة (٢-٣  
مل / لتر لبن) لكى يزيد من صلابة الخثرة وفى جميع أنواع الجبن يجب أن تخفف  
المنفحة (٦-١٠ أمثال بالماء) لضمان تجانس توزيعها فى اللبن. فى حالة إستخدام الشرش  
الناتج فى أعداد أغذية للأستهلاك الأدمى فيجب التأكد من نوعية المواد الحافظة  
المستخدمة فى حفظ المنفحة . وفى هذه الحالة يجب أن يستبدل حمض البوريك  
بالجليسرين . كما يمكن استخدام الكحول ، الجليسرول واليود فى إنتاج منفحة معقمة .  
عموماً فإن مستخلص منفحة تحتوى على ١٧ - ٢٤٪ ملح يكون كافياً لتثبيط  
الميكروبات ويمنع تلف أنزيم المنفحة بواسطة البكتريا المحللة للبروتين التى قد تكون موجودة

في المستخلص . لذلك فإن خلط انظمة أنزيمية أخرى مع المنفحة يعنى إضافة أنزيمات محللة للبروتين قد تسبب تحلل أنزيم المنفحة نظراً لأنه بروتين . تفقد المنفحة الحيوانية ١ - ١,٥ ٪ من قوتها شهرياً ولكن في الأسابيع الأولى القليلة بعد التحضير يكون الفقد مرتفع ، بعد ذلك يمكن حفظ المنفحة عادة لفترة دون حدوث تغير كبير في درجة ثباتها .

## ٢-٢- المنفحة الميكروبية

يستخدم حالياً بدائل للمنفحة تحتوي على أنزيمات مماثلة من الميكروبات والنباتات لأسباب اقتصادية ودينية وثقافية بدرجة واسعة في صناعة الجبن ويجب أن يتوفر الاعتبارات التالية في إنتاج بدائل المنفحة :

- ١ . يجب أن إنتاجها من مواد خام متوفرة بكميات كافية لإنتاجها بتكاليف مقبولة اقتصادياً .
  - ٢ . أن لا تكون سامة أو لا تحتوي على مواد سامة .
  - ٣ . أن تناسب أنواع الجبن المختلفة دون حدوث تغييرات في طريقة الصناعة .
  - ٤ . يجب الا تؤثر بشدة على المحصول وجودة الناتج .
  - ٥ . يجب أن تكون مماثلة للمنفحة الحيوانية calf rennet وخاصته فيما يتعلق بالتركيب الكيماوى .
  - ٦ . الأستخلاص والصناعة على المستوى الصناعى يجب أن يتم على مستوى ميكروبيولوجى مرتفع .
- والجدول (١-٤) يبين المصادر المختلفة لبداائل المواد المجبنة .

جدول ١-٤ : مصادر بدائل المواد المجبنة

| النوع | مصدر الأنزيم          | النوع  | مصدر الأنزيم                 |
|-------|-----------------------|--------|------------------------------|
| نبات  | Papaya (papain)       | بكتريا | <i>Bacillus polymyxa</i>     |
|       | Pineapple (bromelain) |        | <i>Bacillus subtilis</i>     |
| حيوان | Calf (chymosin)       |        | <i>Bacillus mesentericus</i> |
|       | Ox (pepsin)           | فطر    | <i>Mucor miehei</i>          |
|       | Pig (pepsin)          |        | <i>Mucor pusillus</i>        |
|       | Chicken (pepsin)      |        | <i>Endothia pasasitica</i>   |

وقد وجد أن الأنزيمات من البكتريا والنبات لها قدرة زائدة على تحلل البروتين مما يجعلها غير مناسبة لصناعة الجبن بالرغم من أنها ما زالت تستخدم فى بعض مناطق من العالم . زيادة الطلب على المنفحة أدى إلى إنتاج منفحة ميكروبية microbial rennet ناتجة

من بعض الفطريات . معظم المنافع الميكروبية المتوفرة فى الأسواق ناتجة من فطر *M.pusillus* ، *M.miehei* وتسوق تحت أسماء تجارية مختلفة مثل Emporase, Marzyme, Hannilase, Rennilase كأمثلة ، فى عام ١٩٧٤ وجد أن حوالى ٦٠٪ من اللبن فى الولايات المتحدة مصنعة باستخدام المنفعة الميكروبية بينما فى أوروبا كانت المنفعة الميكروبية أقل انتشاراً . وقد ذكر البعض أن أكثر من ثلث اللبن الناتجة فى عام ١٩٨١ فى جميع أنحاء العالم تستخدم المنفعة الميكروبية فى صناعتها . ومن الأمور الهامة التى تم التركيز عليها فى هذا المجال هو بقايا المواد المتجبة فى الشرش حيث يستخدم هذا الشرش فى تحضير بعض منتجات الألبان وأغذية الأطفال والأغذية الخاصة . بقايا المواد المتجبة تسبب تحلل للبروتين أثناء تصنيع الشرش مما يؤدي إلى ظهور أطعمة مرغوبة أو حتى فى الأغذية المحتوية على لبن متجن .

عدة مئات من مزارع البكتريا والفطر تم دراستها من حيث قدرة أنزيماتها على تجبن اللبن وتحليل البروتين وقليل من هذه الأنواع قد تم الاستفادة منها على نطاق تجارى ( جدول ٢-٤ ) .

جدول ٢-٤ : بعض أنواع من المنفعة الميكروبية المتوفرة تجارياً

| مصدر الأنزيم                  | الاسم التجارى للمنفعة |
|-------------------------------|-----------------------|
| <i>Mucor miehei</i>           | Hannilase             |
| <i>Mucor miehei</i>           | Rennilase             |
| <i>Mucor miehei</i>           | Formase               |
| <i>Mucor miehei</i>           | Miki                  |
| <i>Mucor miehei</i>           | Marzyme               |
| <i>Mucor pusillus</i>         | Novadel               |
| <i>Mucor pusillus</i> (Lindt) | Noury                 |
| <i>Mucor pusillus</i> (Lindt) | Meito                 |
| <i>Mucor pusillus</i> (Lindt) | Emporase              |
| <i>Endothia parasitica</i>    | Suparen               |
| <i>Endothia parasitica</i>    | Sure curd             |
| <i>Bacillus subtilis</i>      | Mikrozyme             |

ويختلف معدل إضافة هذه المستحضرات إلى اللبن إختلافاً طفيفاً من ١٨,٧٥ - ٢٥ مل لكل ١٠٠ لتر لبن . بعض هذه المستحضرات تكون فى صورة مسحوق أو حبيبات صغيرة وتذاب فى الماء قبل إستخدامها (حيث يذاب ١,٢ جرام Noury / ١٠ لتر ماء لكل ١٠٠ لتر لبن) .

بعض السلالات الميكروبية تنتج منفحة للجن الطرية التى تستهلك طازجة تسبب طعم مر عندما تستخدم فى اللبن المسواه لذلك فإنه من الضرورى معرفة نشاط مختلف

المستحضرات الميكروبية التى تختلف طبقاً للـpH ونظام الأنزيم . بروتينيز منفحة *M.miehei* تحلل الروابط البيتيدية المشتركة فيها الأحماض الأمينية العطرية أى روابط عند فينيل ألانين - فالين ، ليوسين - تيروسين ، فينيل - ألانين أو عند روابط فينيل ألانين - تيروسين . يحلل الأنزيم الكازين بدرجة سريعة فى نطاق pH ٥,٥ إلى ٧,٠ وبالرغم من ذلك فإن احتمال وجود الطعم المر فى الجبن ضعيف ، تستخدم هذه المنفحة بنجاح فى صناعة عديد من أنواع الجبن . إضافة الملح إلى اللبن ، كما فى صناعة بعض أنواع من الجبن مثل الدمياطى ، يبطئ من تجبن اللبن بواسطة هذه المنفحة ولكن إضافة كلوريد الكالسيوم يقلل من وقت التجبن بدرجة ملحوظة . ومع ذلك فإن هذا الأنزيم حساس جداً للحرارة فى نطاق ٣٧ - ٤٥°م ، درجة الحرارة المثلى له ٤٢°م ويتلف عند درجة ٧٠°م . لسوء الحظ فإن بروتينات الشرش يحدث لها دنتره عند هذه الدرجة والتى يجعل من الصعب الاستفادة من الشرش.

الأنزيم نشط فى نطاق pH من ٥,٥ إلى ٧,٥ ويهاجم كل من  $\alpha$ - and  $\beta$ - caseins فى هذا النطاق ، وجود الطعم المر فى خثرة الجبن ضعيف . بالرغم من أن منفحة *M.miehei* غالباً ما تستخدم بمفردها إلا أن صانعى الجبن يستخدم خليط من *M.miehei* والبيسين بنجاح .

مستخلص *M. pusillus* (Lindt) من أول المنافح الميكروبية التى أستخدمت لكن قدرته على تحلل البروتين أعلا منها فى المنفحة الحيوانية للعجول أو *M.miehei* . قدرة هذا المستخلص على تجبن اللبن ثلاث أضعاف قدرة المنفحة الحيوانية . الزيادة فى تركيز أيونات الكالسيوم فى اللبن يقلل من مدة التجبن لذلك فإن إضافة كلوريد الكالسيوم يعتبر ضرورياً .

الأنزيم من *M.pusillus* يحلل الروابط البيتيدية عند الأحماض الأمينية العطرية ولكن ليس بدرجة تخصص مستخلص *M.miehei* . ينتج الأنزيم بببيدات كبيرة بينما المنفحة الحيوانية تنتج عدد من الببيدات الصغيرة لذلك فإن مستخلص *M.pusillus* يستخدم أحياناً مع المنفحة الحيوانية .

يعطى أنزيم *M.pusillus* خثرة ضعيفة نظراً لأرتفاع نشاطه فى تحلل البروتين وتميل الخثرة إلى فقد الدهن فى الشرش . حيث تصل نسبة الدهن فى الشرش الناتج ٤,٠٪ - ٥,٠٪ . ويكون محصول الجبن أقل عن المواد المجبنة الأخرى . يعطى هذا الأنزيم طعم مر فى الجبن المسواه لذلك يفضل إستخدامه فى الجبن التى تسوى لفترات قصيرة . مستخلص *M.pusillus* يكون أفضل نشاطاً عند pH ٥,٥ الذى يكون حامضى جداً لتجبن اللبن

الطبيعى ويستمر نشاطه فى الشرش مما يؤدي إلى عدم الاستفادة من الشرش الناتج .  
 الأنزيم المستخلص من *Endothia parasitica* عبارة عن بروتينيز حامضى لكن فى بعض المستخلصات قد يوجد عدد من أنزيمات البروتينيز والليباز إذا لم يتم تنقية المستخلص بكفاءة . هذا الأنزيم أكثر نشاطاً فى تحلل  $\alpha_s$ - ,  $\beta$ -caseins وأقل نشاطاً فى تحلل k-casein عن المنفحة الحيوانية وبدائل المنفحة الأخرى ، نتيجة لذلك فقد يسبب إنخفاضاً ملحوظاً فى محصول الجبن الناتج بالمقارنة بالمحصول الناتج بالمنفحة الحيوانية مع ظهور مرارة فى طعم الجبن المرتفعة فى الرطوبة ، لذلك قد يلجأ البعض إلى استخدام هذا المستخلص مع المنفحة الحيوانية لتحسين محصول الجبن الناتج . يتلف مستخلص *E.parasitica* عند ٦٠°م لمدة ٥ دقائق ويمكن الاستفادة من الشرش إذا تم معاملته حرارياً (٦٠°م / ٥ دقائق) .

وقد أجريت محاولات عديدة للحصول على أنزيمات مجبنة للبن من مصادر بكتيرية حيث أوضحت الدراسات إلى أن *Bacillus cereus* ، *B.polymyxa* ، *B.mesentericus* ، *B.subtilis* ، *B.licheniformis* ، *B.megaterium* قد تكون مصادر يعتمد عليها فى الحصول على الأنزيمات المجبنة . وقد أشار البعض إلى الحصول على جبن مقبولة الجودة باستخدام مواد مجبنة من مصادر بكتيرية ومع ذلك فإن هذه المستحضرات لا تستخدم فى صناعة الجبن على نطاق واسع كما ان هذه المستحضرات غير متوفرة على نطاق تجارى مقارنة ببدائل المنفحة الأخرى .

ومن الأمور الجديدة بالذكر أن نجاح صناعة الجبن يؤكد على توفر أنزيمات مجبنة مناسبة كجزء من المخاليط الخامة crude mixtures المحتوية على أنزيمات أخرى لها قدرة عالية على تحلل للبروتين فقد تمكن Berridge فى عام ١٩٤٢ إنتاج رنين فى صورة بللورات عالية النقاوة وعندما أضيفت الشوائب التى أستخلصت أثناء عملية التنقية للرنين ثانية إلى محلول الرنين أدى ذلك إلى الحصول على جبن يحتوى على الطعم المرغوب مما يدل على أن الأمر يتطلب أكثر من الرنين النقى وأن الشوائب المستخلصة تحتوى على بعض المواد ( قد تكون أنزيمات غير معروفة ) ضرورية لإنتاج الطعم .

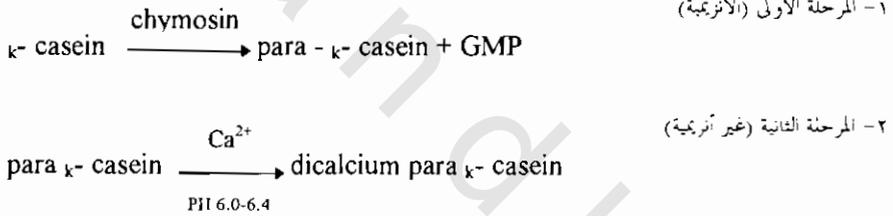
### ٢-٣ - المنفحة النباتية

عديد من الأنزيمات المستخلصة من النباتات vegetable rennets تم تجربتها فى تجبن اللبن فى صناعة الجبن وكانت المحاولات غير ناجحة . معظم أنزيمات بروتينيز النبات لها قدرة عالية على تحلل البروتين وتسبب تحلل الخثرة بدرجة كبيرة مما يؤدي إلى إنخفاض محصول الجبن وظهور مرارة فى الطعم مع قوام عجيني pasty - body وقد تم التعرف على

قدرة بعض العصارات النباتية على تجبن اللبن منذ فترة طويلة وخاصة عصارات أوراق التين ( *Ficus carica* ) حيث أستخدمت هذه العصائر في مناطق زراعة هذه الأشجار . كثير من المستخلصات من مصادر نباتية يجبن اللبن ولكن بعض منها يحلل البروتين بدرجة شاملة مثل البابين papain من نبات الباباوا ( *Carica papaya* ) والبروملين bromelin من الأناناس ( *Ananas saliva* ) والريسسين ricin من بذور زيت الخروع ( *Ricinus communis* ) كما أن بعض النباتات تعطي عصائر سامة poisonous مثل بذور زيت الخروع ونبات الشوكران ( *Conium maculatum* ) hemlock

### ٣- التجبن الأنزيمي للبن

عملية التجبن الأنزيمي للبن enzymic coagulation of milk عملية معقدة تحدث على مرحلتين أحدهما أنزيمية رئيسية primary enzymatic phase والثانية غير أنزيمية ثانوية secondary nonenzymatic phase تنتهي هذه العملية بتجميع جسيمات الكازين casein micelles لتكون بناء جل متماسك (خثرة curd) .



تعتمد عملية تجبن اللبن بالمنفحة على أتلاف قدرة الكابا كازين  $\kappa$ -casein على حماية جسيمات الكازين micelles بواسطة الكيموسين حيث يوجد  $\kappa$ -casein على جسيمات الكازين وغالباً مع  $\alpha_s$ -caseins ويقوم بحماية الكازينات من التجبن . يقوم الكيموسين بتحليل  $\kappa$ -casein ، وهو بروتين اللبن الوحيد (١٦٩ حامض أميني) الذي يتحلل خلال هذه المرحلة من التجبن ، إلى شقين متميزين أحدهما غير محب للماء وهو hydrophobic para  $\kappa$ -casein (يحتوى على أحماض أمينية من ١-١٠٥ من السلسلة الببتيدية) وشق محب للماء وهو hydrophilic glycomacropetide (GMP) (يحتوى على الأحماض الأمينية من ١٠٦ - ١٦٩ من السلسلة الببتيدية) حيث يتم تحلل الرابطة الببتيدية  $\text{Phe}_{106} - \text{Met}_{106}$  لتكوين هذين الشقين مكوناً باراكابا كازين و GMP .

الأنزيمات المجبنة للبن الأخرى تكون أقل تخصصية من الكيموسين تحدث نفس التأثير بصفة عامة. هذا التفاعل يضعف من ثبات الجزئيات الناتجة (باركابا كازين) التى تتجبن فى وجود تركيز حرج من  $Ca^{2+}$  عند درجة حرارة  $٢٠^{\circ}C$  أو أعلا .

تتأثر المرحلة الأنزيمية بنفس العوامل التى تؤثر على جميع التفاعلات الأنزيمية . التباين فى كمية الأنزيم يكون له التأثير الأكبر . يؤثر كل من درجة الحرارة و pH التفاعل الأنزيمى بطريقتين مختلفتين . كلما ارتفعت درجة الحرارة فإن معدل تحلل casein- $\mu$  يزداد إلى أن ترتفع درجة الحرارة بدرجة كافية لتحدث تغيير ( دنتره denaturation ) فى طبيعة الأنزيم، عند هذه النقطة فإن معدل التفاعل ينخفض بسرعة ويفقد الأنزيم نشاطه الذى لا يمكن استعادته أى أن التغيير فى هذه الحالة غير رجعى irreversible .

يكون لكل أنزيم محب للبن درجة pH مثلى عندها يكون الأنزيم فى أفضل درجات نشاطه . ارتفاع أو انخفاض pH عن هذه الدرجة يخفض من نشاط الأنزيم كما أن الحموضة أو القلوية الزائدة تسبب تغيير فى طبيعة ( دنتره ) الأنزيم ويكون هذا التغيير رجعى reversible . فى صناعة الجبن فإن إضافة مزارع البادىء يؤدى إلى زيادة الحموضة وخفض pH إلى الدرجة المثلى للأنزيم الجبن للبن.

معامل درجة الحرارة (  $Q_{10}$  ) temperature coefficient للمرحلة الأولى (الأنزيمية) من التجبن ١,٨ - ٢ وللمرحلة الثانية ( غير أنزيمية ) ١٢ - ١٦ عند pH ٦,٧ . تتم المرحلة الأولى من التجبن عند درجة حرارة أقل قد تصل إلى الصفر المئوى بينما المرحلة الثانية من التجبن تتم ببطء شديد أو لا تحدث عند درجة حرارة أقل من  $١٥^{\circ}C$  ، إذا سخن اللبن المررد المحتوى على المنفحة فإن التجبن يحدث بسرعة كبيرة . لذلك فإن إضافة المنفحة إلى اللبن المررد تتم تدفئة سريعة للبن هو الأساس فى طريقة التجبن المستمر للبن continuous coagulation of milk .

تحدث المرحلة الثانية من التجبن عند درجة حرارة  $٢٠^{\circ}C$  أو أعلا فى وجود  $Ca^{2+}$  . انخفاض محتوى جسيمات الكازين من فوسفات الكالسيوم الغروية (CCP) يؤدى إلى عدم حدوث التجبن إلا إذا ارتفع تركيز  $Ca^{2+}$  حيث أن التغيير فى التركيب البنائى لجسيمات الكازين نتيجة فقد CPP يضعف من قدرتها على تكوين شبكة جل بروتين (خثرة) . هناك مرحلة ثالثة حيث يستمر تحلل الكازين عند مستوى منخفض خلال عملية التسوية وتساهم فى تكوين صفات وطعم الجبن الناتج .

هناك قليل من أنواع الجبن يكون التجبن فيه حامضياً حيث يتم هذا النوع من التجبن بإضافة حامض أو نتيجة نشاط بكتريا حامض اللاكتيك (بادىء) ويتم ذلك على

درجات حرارة ٢١-٢٢°م كما فى صناعة جبن Cottage والقريش واليوهورت . عادة تكون الخثرة الحامضية مفككة وغير متماسكة إذا جفت نوعاً أو انخفضت نسبة الرطوبة بها حيث يصبح تركيبها حبيبي بدرجة واضحة ، طرية وقدرتها على الأنكماش وطررد الشرش ضعيفة وتحتوى على كمية أقل من الأملاح نظراً لذوبانها بواسطة الحامض وفقدتها فى الشرش . كما أن الخثرة تعتبر وسطاً غير ملائماً لنمو معظم الميكروبات حيث يتم التجبن عند pH ٤,٦ .

يتضمن تصنيع بعض أنواع من الجبن تكوين خثرة بفعل الحموضة والمنفحة ويعتبر pH على درجة كبيرة من الأهمية فى سلوك هذه الخثرة ، عند pH أقل من ٥,١٥ فإن صفات الخثرة تكون قريبة جداً لصفات الخثرة الحامضية بينما عند pH أعلا من ٥,١٥ فإن صفات الخثرة تكون مشابه لصفات خثرة المنفحة . ومع ذلك فإنه قد يحدث تعديل فى صفات الخثرة الحامضية فى وجود المنفحة والنشاط المستمر لتحلل البروتين (عند درجات حرارة أعلا من ١٥°م) يعنى أن صلابة الجل النهائية تكون أقل (يرجع إلى الفصل الخامس)

#### ٤- معاملات اللبن والتجبن الأنزيمى

تسخين اللبن قبل إضافة المنفحة يجعل من الصعب تجبن اللبن بالمنفحة وهذه التأثيرات تكون رجعية بصفة أساسية إلا إذا سخن اللبن لدرجة حرارة تسبب حدوث دنثرة ل-lactoglobulin (حوالى ٧٢°م لبضع دقائق أو ٩٠°م لمدة دقيقة) حيث يتفاعل مع k-casein عن طريق تكوين روابط disulphide لذلك يمكن أن يرتبط β-lactoglobulin فقط بشق para-k-casein مما يجعل k-casein أقل حساسية لفعل المنفحة وأيضاً يزيد من صعوبة وصول المنفحة إلى مواقع التأثير فى k-casein .

تسخين اللبن قد يسبب أيضاً تغيير فى توزيع فوسفات الكالسيوم فى جزيئات الكازين والسيرم مما يجعل حتى جزيئات الكازين التى تأثرت بالمنفحة أقل قابلية على التجمع وتكوين الخثرة . يمكن معالجة هذا التأثير بخفض pH اللبن إلى أقل من ٦,٠ ثم إعادة ضبطه إلى ٦,٣ أو أعلا قبل إضافة المنفحة كما يمكن معالجة تأثير التسخين بإضافة كلوريد كالسيوم إلى اللبن .

تبريد اللبن قبل إضافة المنفحة يزيد من مدة التجبن نتيجة انخفاض معدل التفاعل الأنزيمى فى التجبن . يحدث أيضاً تغيير فى جزيئات الكازين أثناء التبريد مثل تحلل بعض

$\beta$ -,  $k$ -caseins وإذابة بعض فوسفات الكالسيوم المرتبطة بجزيئات الكازين . هذا الانخفاض يمكن أن يكون عكسياً بدرجة كاملة تقريباً بواسطة البسترة أو حفظ اللبن على درجات حرارة مرتفعة ولكن الاستعادة لا تكون كاملة .

تخزين اللبن تحت درجات التبريد يسمح بحوث تحلل الدهون والبروتين بفعل البكتريا المقاومة للبرودة psychrotrophic bacteria وأنزيمات اللبن الطبيعية وكذلك الخلايا السومينية somatic cells. تخزين اللبن عند درجة  $4^{\circ}\text{C}$  أو  $7^{\circ}\text{C}$  عدة تصل إلى ٤٨ ساعة يسبب أيضاً تحلل الكازينات وخاصة  $\beta$ -casein , Ca , Pi من جسيمات الكازين. هذه العملية قد تكون عكسية بدرجة جزئية بواسطة التبريد لفترة طويلة وتكون عكسية بدرجة كاملة بالمعاملة الحرارية ( $60^{\circ}\text{C}$  / ٣٠ دقيقة أو  $72^{\circ}\text{C}$  / دقيقة ) . هناك أيضاً تغيير في توزيع جسيمات الكازين طبقاً لحجمها بعد حفظ اللبن عند  $4^{\circ}\text{C}$  لمدة ٤٨ ساعة مع انخفاض في نسبة الجسيمات الصغيرة .

يتأثر تجبن اللبن بالمنفحة بحجم جسيمات الكازين كما ترتبط صلابة الخثرة بحجم جسيمات الكازين ، زيادة عدد جسيمات الكازين صغيرة الحجم تزيد من صلابة الخثرة الناتجة عند نفس التركيز من الكازين .

المعاملات الحرارية أعلا من البسترة في نطاق  $90^{\circ}\text{C}$  / ١٥ ثانية إلى  $140^{\circ}\text{C}$  لمدة ٤ ثوان يمكن استخدامها في صناعة الجبن . هذه المعاملات قد تسبب دنثرة جزئية لمعظم بروتينات الشرش التي تترسب في صورة تجمعات أو ترتبط بال-k-casein على السطح الخارجى لجسيمات الكازين . كما أن هذه المعاملات الحرارية تقلل من تركيزات الكالسيوم والفوسفور الذائب والذي يمكن إستعادته على الأقل جزئياً بالتخزين تحت ظروف التبريد .

في اللبن الناتج من مواشى مصابة بمرض التهاب الضرع تكون بروتينات الشرش أعلا مع انخفاض الكازين واختلال الأتزان الملحي مما يؤدي إلى صعوبة عملية التجبن وتكوين خثرة ضعيفة مرتفعة في الرطوبة وزيادة فقد الدهون في الخثرة وانخفاض محصول الجبن الناتج .

تجنيس اللبن يؤثر على تجبن اللبن بالمنفحة . حيث يلتصق بعد عملية التجنيس ، جزيئات الكازين بسطح حبيبات الدهن ، كما أن بعض جزيئات الكازين قد تتحلل قبل الألتصاق . مما يؤثر على تجبن اللبن بالمنفحة نظراً لأحتمال ارتباط الروابط الحساسة لفعل المنفحة بسطح حبيبات الدهن وبالتالي تتكون الخثرة في اللبن المجنس بمعدل أبطأ وتكوين خثرة أكثر طراوة وأعلا في نسبة الرطوبة .

تركيز اللبن بواسطة الترشيح الفائق UF يعتبر عامل هام يؤثر على تجبن اللبن بالمنفحة حيث يقلل من معدل التجبن بالمنفحة نتيجة بقاء إنتشار الأنزيم نظراً لزيادة الحجم الذى يشغله جزيئات الكازين فى الألبان المركزة . (يرجع إلى الفصل الثامن) .